

[First Hit](#)      [Previous Doc](#)      [Next Doc](#)      [Go to Doc#](#)

☐ [Generate Collection](#)      [Print](#)

L4: Entry 5 of 5

File: JPAB

May 20, 1987

PUB-NO: JP362108844A  
DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 62108844 A  
TITLE: NOVEL GLYCEROL DERIVATIVE

PUBN-DATE: May 20, 1987

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

IKETANI, YUKINOBU

TAGUCHI, HEIHACHIRO

NIITSU, KAZUAKI

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

COUNTRY

TSUMURA JUNTENDO INC

APPL-NO: JP60247207

APPL-DATE: November 6, 1985

US-CL-CURRENT: 554/224

INT-CL (IPC): C07C 69/587; A61K 31/23

ABSTRACT:

NEW MATERIAL: A glycerol derivative of formula (when R1 is linoleoyl, R2 is linoleoyl or palmitoyl and when R1 is palmitoyl, R2 is tricosanoyl, linoleoyl or palmitoyl).

EXAMPLE: 1-Tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl-glycerol.

USE: Remedy for thrombotic diseases.

PREPARATION: Dried seed of Trichosanthes japonica. Trichosanthes bracteata, etc. (a plant of Cucurbitaceae family) is extracted with a solvent such as water, methanol, ether, benzene, etc., and subjected to column chromatography. The obtained crude fraction is purified by chromatography to obtain the objective compound.

COPYRIGHT: (C)1987, JPO&Japio

[Previous Doc](#)      [Next Doc](#)      [Go to Doc#](#)

translate 6/5/07

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-108844

⑬ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和62年(1987)5月20日

C 07 C 69/587  
// A 61 K 31/23

A C B

6670-4H  
7330-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全7頁)

⑮ 発明の名称 新規なグリセリン誘導体

⑯ 特 願 昭60-247207

⑰ 出 願 昭60(1985)11月6日

⑱ 発 明 者 池 谷 幸 信 茨城県稲敷郡牛久町栄町6-391

⑲ 発 明 者 田 口 平 八 郎 調布市下石原2-40-8

⑳ 発 明 者 新 津 和 明 茨城県稲敷郡牛久町栄町6-52 コーポサンライズB-105

㉑ 出 願 人 株式会社津村順天堂 東京都中央区日本橋3丁目4番10号

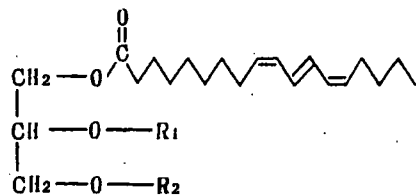
明 細 書

1. 発明の名称

新規なグリセリン誘導体

2. 特許請求の範囲

(1) 一般式



(一般式中、R<sub>1</sub>がリノレオイル基のときには、R<sub>2</sub>はリノレオイル基またはパルミトイル基であり、R<sub>1</sub>がパルミトイル基のときには、R<sub>2</sub>はトリコサノイル基、リノレオイル基またはパルミトイル基である。)

で表される新規なグリセリン誘導体。

(2) 上記一般式において、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がリノレオイル基である特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(3) 上記一般式において、R<sub>1</sub>がリノレオイル

基であり、R<sub>2</sub>がパルミトイル基である特許請求の範囲第1項記載の化合物。

3. 発明の詳細な説明

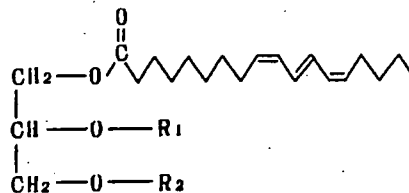
本発明は新規なグリセリン誘導体に関するものである。

近年わが国における食生活の変化や高齢化現象に伴い、心筋梗塞や脳血栓等の血栓性疾患の急増が大きな社会問題になっている。

また、この血栓性疾患の治療薬がその薬理上あらゆる面から検討され、開発されている。

本発明者等は、血栓性疾患の治療に有用な薬剤を開発すべく鋭意研究を行った結果、前記一般式で表される新規なグリセリン誘導体を見出し、本発明を完成した。

すなわち、本発明は、一般式



(一般式中、R<sub>1</sub>がリノレオイル基のときには、R<sub>2</sub>はリノレオイル基またはパルミトイル基であり、R<sub>1</sub>がパルミトイル基のときには、R<sub>2</sub>はトリコサノイル基、リノレオイル基またはパルミトイル基である。)

で表される新規なグリセリン誘導体(以下、一般式の化合物と称する)に関するものである。

上記一般式の化合物は、代表的には以下に示すような化合物があり、次のような方法により得られる。

上記一般式の化合物のうちR<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がリノレオイル基である、1-トリコサノイル-2,3-ジリノレオイル-グリセロールおよびR<sub>1</sub>がリノレオイル基、R<sub>2</sub>がパルミトイル基である、1-トリコサノイル-2-リノレオイル-3-パルミトイル-グリセロールは次のようにして得られる。

ウリ科の植物キカラスウリ(*Trichosanthes kirillowii* MAXIMOWICZ var. *japonicum* KITAMURA)、オオカラスウリ(*Trichosanthes bracteata* VOIGT)または、*Trichosanthes*

属の担体に、水、アセトニトリル、メタノール、アセトン、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、エーテル、クロロホルム、塩化メチレン、ベンゼン、n-ヘキサン、石油エーテルから選ばれる単独もしくはそれ以上の混合溶媒を展開溶媒に使用して分取薄層クロマトグラフィーに付し、展開後、紫外線(254nm)照射により識別される1-トリコサノイル-2,3-ジリノレオイル-グリセロールおよび1-トリコサノイル-2-リノレオイル-3-パルミトイル-グリセロールを含有する部分を剝離し、エーテル、塩化メチレン、石油エーテル等の低沸点溶媒の単独もしくは混合溶媒により抽出し、抽出液より溶媒を留去することにより1-トリコサノイル-2,3-ジリノレオイル-グリセロールおよび1-トリコサノイル-2-リノレオイル-3-パルミトイル-グリセロールの混合オイルが得られる。

この混合オイルを、ODS-シリカゲルをカラム担体に、水、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、メタノール、アセトン、酢酸エチル、ク

kirillowii MAXIMOWICZ の乾燥種子である橋樑仁を水、メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチル、エーテル、塩化メチレン、ベンゼン、n-ヘキサン、石油エーテルから選ばれる単独もしくはそれ以上の混合溶媒を用いて、0℃から使用する溶媒の沸点以下の温度に加熱して抽出するか、あるいは0℃から室温で、超音波抽出して抽出液を得る。この抽出液をそのまま、もしくは濃縮あるいは乾燥してシリカゲル、アルミナ、ODS-シリカゲル等の吸着剤を使用したカラムクロマトグラフィーに付し、抽出液を分取して粗分画を得る。溶出溶媒としては水またはメタノール、エタノール、アセトン、テトラヒドロフラン、酢酸エチル、エーテル、クロロホルム、塩化メチレン、ベンゼン、n-ヘキサン、石油エーテル等の単独もしくはそれ以上の混合溶媒を使用し得る。

こうして得た粗分画をそのまま、もしくは濃縮、乾燥して蛍光剤入りシリカゲル(メルク社製、Kieselgel 60 PF<sub>255</sub>,等)、又はアルミナ(メルク社製、アルミニウムオキシドPF<sub>255</sub>,等)を薄層

クロロホルム、n-ヘキサンから選ばれる単独もしくはそれ以上の混合溶媒を移動相に使用した分取液体クロマトグラフィーに付し、1-トリコサノイル-2,3-ジリノレオイル-グリセロールを含むフラクションと1-トリコサノイル-2-リノレオイル-3-パルミトイル-グリセロールを含むフラクションに分離し、更に1-トリコサノイル-2,3-ジリノレオイル-グリセロールを含むフラクションを合併し、溶媒を留去することにより、油状物質の1-トリコサノイル-2,3-ジリノレオイル-グリセロールが得られる。

また、1-トリコサノイル-2-リノレオイル-3-パルミトイル-グリセロールを含むフラクションを合併し、溶媒を留去することにより、粗1-トリコサノイル-2-リノレオイル-3-パルミトイル-グリセロールの乾燥オイルを得る。この乾燥オイルを再度上記と同様の分取液体クロマトグラフィーで精製し、1-トリコサノイル-2-リノレオイル-3-パルミトイル-グリセロールを含むフラクションを合併し、溶媒を留去することにより、無

色油状の1-トリコサノイル-2-リノレオイル-3-  
 パルミトイル-グリセロールを得る。

### (以下余白)

次に一般式の化合物の製造の具体例を示す。

#### 具体例1

栝楼仁(キカラスウリ *Trichosanthes kirillowii* MAXIMOWICZ var. *japonicum* KITAMURA の種子)480gを粉砕し、エーテル2.5Lを加え、6時間加熱還流抽出し、抽出液を冷却後濾過した。抽出残渣を同様にしてさらに2回抽出した後、抽出濾液を合併し、減圧下に溶媒を留去し、乾燥エキス118.46gを得た。このエーテル抽出乾燥エキス118.46gをシリカゲル(Kieselgel 60, 70-230メッシュ、メルク社製)700gのカラムクロマトグラフィーに付し、n-ヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒で酢酸エチルの溶媒比率を順次増加して溶出した。n-ヘキサン:酢酸エチル(94:6)0.6Lで溶出されたフラクションを合併し、減圧下に溶媒を留去し、粗分画32.51gを得た。

この粗分画25.44gを分取薄層クロマトグラフィー[プレート, Kieselgel 60 P.F., (メルク社製); 展開溶媒, n-ヘキサン: 酢酸エチル

(9:1)]に付し、紫外線(254nm)照射下で吸収を示す部分を剝離し、エーテルを加えて抽出した。抽出液より溶媒を留去して得た残渣17.86gを分取高速液体クロマトグラフィー[カラム, ウォータース社製 semi prep  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> (径7.8mm, 長さ30cm); 移動相, アセトニトリル:テトラヒドロフラン:水(50:50:7); 流速3.0ml/min; 検出, 示差屈折検出器; 温度, 室温]に付した。保持時間10.1分に溶出する物質を含むフラクションを合併し、減圧下に溶媒を留去して得た残渣6.33gを、分取高速液体クロマトグラフィー[カラム, ウォータース社製  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> (径7.8mm, 長さ30cm); 移動相, アセトニトリル:テトラヒドロフラン(9:1); 流速3.0ml/min; 温度, 室温]に付した。保持時間32分に溶出する物質を含むフラクションを合併し、減圧下に溶媒を留去し、無色油状物質0.57gを得た。この無色油状物質は、後述のスペクトルデータから1-トリコサノイル-2-リノレオイル-3-パルミトイル-グリセロールと決定

した。

性状: 無色油状物質

フィールドデソープションマスマスペクトル

(FD-MS):  $m/z$  852 ( $M^+$ )

赤外線吸収スペクトル  $\lambda_{max}^{CHCl_3}$   $cm^{-1}$ :

1735, 1461, 1169, 993

紫外線吸収スペクトル  $\lambda_{max}^{EtOH}$  nm(log  $\epsilon$ ):

266(4.38), 274(4.49),

285(4.37)

プロトン核磁気共鳴スペクトル( $\delta$ ppm in  $CDCl_3$ ):

0.90(9H, s), 1.32(56H, s),

1.85-2.47(14H, s),

2.78(2H, s),

4.23(4H, s),

5.08-5.62(7H, s),

5.92-6.58(4H, s).

$^{13}C$ -核磁気共鳴スペクトル: ( $\delta$ ppm in  $CDCl_3$ )

13.95(q), 14.07(q),

14.11(q), 22.35(t),

22.60(t), 22.70(t).

24.52 (t), 24.89 (t),  
 25.66 (t), 27.23 (t),  
 27.60 (t), 27.85 (t),  
 29.08 (t), 29.15 (t),  
 29.37 (t), 29.51 (t),  
 29.56 (t), 29.66 (t),  
 30.47 (t), 31.55 (t),  
 31.89 (t), 31.94 (t),  
 34.05 (t), 34.22 (t),  
 62.13 (t), 68.95 (d),  
 127.84 (d), 127.92 (d),  
 128.12 (d), 128.78 (d),  
 128.89 (d), 129.73 (d),  
 130.00 (d), 130.23 (d),  
 132.44 (d), 132.70 (d),  
 172.80 (s), 173.23 (s) × 2

本物質のプロトン核磁気共鳴スペクトル(CDCI<sub>3</sub>)において、 $\delta$ 5.92-6.58(4H, m)にトリコサン酸の6個のオレフィンプロトンのうちの4個のオレフィンプロトンのシグナルが、 $\delta$ 5.08

た、トリグリセロールの1位と3位のエステル結合を選択的に加水分解させるとされているブク降置リパーゼ[文献:H.B.S. Conacher, F.D. Gunstone, G.V. Horaby and F.B. Padley, Lipid, 5, 434 (1970)]と本物質を反応させると、トリコサン酸、パルミチン酸および2-リノレオイルグリセロールが得られた。以上の知見を総合して、本物質は1-トリコサノイル-2-リノレオイル-3-パルミトイル-グリセロールと決定した。

#### 具体例2

桔梗仁(キカラスウリ *Trichosanthes kirillowii* MAXIMOWICZ var. *japonicum* KITAHARA の種子)480gを粉砕し、エーテル2.5Lを加え、6時間加熱還流抽出し、抽出液を冷後濾過した。抽出液を同様にさらに2回抽出した後、抽出液を合併し、減圧下に溶媒を留去し、乾燥エキスを118.46gを得た。このエーテル抽出乾燥エキスを118.46gをシリカゲル(Kieselgel 60, 70-230メッシュ, メルク社製)700gのカラムクロマトグラフィーに付し、

-5.62(7H, m)にトリコサン酸の残りの2個のオレフィンプロトンシグナル、リノール酸の1個のオレフィンプロトンシグナルおよびエステル結合により低磁場シフトしているグリセロールの2位のメチンプロトンシグナルが観察され、また、 $\delta$ 2.78(2H, m)にはリノール酸の1,4-ペンタジエン系の2個のメチレンに基づくシグナルが観察され、さらに $\delta$ 4.23(4H, m)にはエステル結合し低磁場シフトしているグリセロールの1位、3位のメチレンプロトンシグナルが観察された。また、<sup>13</sup>C-核磁気共鳴スペクトル(CDCI<sub>3</sub>)においてもトリコサン酸によると考えられるオレフィンカーボンシグナル( $\delta$ 132.70(d), 132.44(d), 128.89(d), 128.78(d), 127.84(d))が、リノール酸によると考えられるオレフィンカーボンシグナル( $\delta$ 130.23(d), 130.00(d), 128.12(d), 127.92(d))が、さらに $\delta$ 62.13(t)と $\delta$ 68.95(d)にはそれぞれグリセロールのメチレン、メチンカーボンシグナルが観察された。ま

n-ヘキサンと酢酸エチルの混合比率を順次増加して溶出した。このうち、n-ヘキサン:酢酸エチル(9:4:6)0.6Lで溶出されたフラクションを合併し、減圧下に溶媒を留去し、粗分画32.51gを得た。

この粗分画25.44gを分取薄層クロマトグラフィー[プレート: Kieselgel 60 P.F., (メルク社製); 展開溶媒: n-ヘキサン:酢酸エチル(9:1)]に付し、紫外線(254nm)照射下で吸収を示す部分を割離し、エーテルを加えて抽出した。抽出液より溶媒を留去して得た残渣17.86gを分取高速液体クロマトグラフィー[カラム: ウォーターズ社製 seal prep  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> (径 7.8mm, 長さ 30cm); 移動相: アセトニトリル: テトラハイドロフラン: 水(50:50:7); 流速: 3.0 mL/min; 検出: 示差屈折検出器; 温度: 室温]に付した。保持時間9.1分に溶出するフラクションを合併し、減圧下に溶媒を留去して無色油状物質2.31gを得た。この無色油状物質は後述のスペクトルデータから1-トリコサノイル-2,3-ジリ

ノレオイル・グリセロールと決定した。

性状：無色油状物質

フィールドデフレーションマスペクトル

(FD-MS):  $m/z$  876 ( $M^+$ )

比旋光度:  $[\alpha]_D^{25} 0^\circ$  ( $c = 1.82, CHCl_3$ )

旋光分散: ORD ( $c = 0.347, Dioxane$ )

$[\phi]^{25}(nm): 0(240 - 700)$

赤外線吸収スペクトル  $\nu_{max}^{CHCl_3} cm^{-1}$ :

1732, 1452, 1435, 990, 960

紫外線吸収スペクトル  $\lambda_{max}^{EtOH} nm(log \epsilon)$ :

255(4.25), 265(4.47),

274(4.59), 285(4.48)

プロトン核磁気共鳴スペクトル ( $\delta ppm$  in  $CDCl_3$ )

0.88(9H, s), 1.32(46H, brs),

1.83-2.43(18H, s),

2.75(4H, t-like,  $J = 5.5 Hz$ ),

4.22(4H, s),

5.07-5.65(11H, s),

5.85-6.60(4H, s)

$^{13}C$ -核磁気共鳴スペクトル ( $\delta ppm$  in  $CDCl_3$ )

5.07-5.65(11H, s)にトリコサン酸の残りの2個のオレフィンプロトンのシグナル、2分子のリノール酸による8個のオレフィンプロトンのシグナルおよびグリセロールの2位のメチンプロトンのシグナルが観察され、また、 $\delta 4.22$  (4H, s)にはグリセロールの1位と3位のメチレンプロトンに基づくシグナルが観察された。さらに、 $\delta 2.75$  (4H, t-like,  $J = 5.5 Hz$ )に2分子のリノール酸の1,4-ペンタジエン系の2個のメチレンに基づくシグナルが観察された。

また、 $^{13}C$ -核磁気共鳴スペクトル ( $CDCl_3$ )においても1分子のトリコサン酸のオレフィンカーボンに基づくシグナル [ $\delta 132.06(d),$

132.41(d), 128.93(d), 128.82(d),

128.01(d), 127.87(d)]が、2分子のリ

ノール酸のオレフィンカーボンに基づくシグナル

[ $\delta 130.24(d) \times 2, 130.01(d) \times 2,$

128.14(d)  $\times 2, 127.96(d) \times 2$ ]が、お

よびグリセロールのメチレン、メチンカーボンに

基づくシグナル [ $\delta 62.14(t) \times 2, 69.00$

13.94(q)  $\times 2, 14.06(q),$

22.34(t), 22.59(t),

24.88(t), 25.69(t),

27.24(t), 27.61(t),

27.86(t), 29.09(t),

29.14(t), 29.38(t),

29.66(t), 31.56(t),

31.90(t), 34.06(t),

34.22(t), 62.14(t)  $\times 2,$

69.00(d), 127.87(d),

127.96(d)  $\times 2, 128.01(d),$

128.14(d)  $\times 2, 128.82(d),$

128.93(d), 130.01(d)  $\times 2,$

130.24(d)  $\times 2, 132.41(d),$

132.66(d),

172.78(s), 173.18(s)  $\times 2$

本物質のプロトン核磁気共鳴スペクトル ( $CDCl_3$ )において、 $\delta 5.85-6.60$  (4H, s)にトリコサン酸の6個のオレフィンプロトンのうちの4個のオレフィンプロトンのシグナルが観察され、 $\delta$

(1)が観察された。また、本物質を前記と同様にブク酢酸リパーゼと反応させると、トリコサン酸とリノール酸が1:1の比率で得られ、さらに、2-リノレオイルグリセロールが得られた。以上の知見を総合して、本物質は1-トリコサノイル 2,3-ジリノレオイル・グリセロールと決定した。

本発明の一般式の化合物は、血小板凝集抑制作用を有し、脳動脈硬化症、狭心症、心筋梗塞等の治療薬として有用である。

一般式の化合物の脂肪酸のエステル結合は、胃酸等の酸や、酢酸リパーゼ等の酵素により、容易に加水分解されて、体内ではグリセロールと脂肪酸すなわち、トリコサン酸、またはリノール酸、またはパルミチン酸に代謝される [H.B.S.

Conacher, F.D. Gunstone, G.M. Hornby and F.B.

Padley, Lipids, 5, 434 (1970)]。従って、

トリコサン酸に血小板凝集抑制作用があれば、一般式の化合物も同様の薬理作用を示すことは明らかである。以下に、トリコサン酸の血小板凝集抑制作用について実験例を挙げて説明する。

## トリコサン酸の製造

栲模仁(キカラスグリ *Trichosanthes kirillowii* MAXIMOWICZ var. *japonica* KITAMURA の種子)2 kgを粉砕し、石油エーテル(沸点45℃以下)10 Lを加え2時間加熱還流抽出し、抽出液を冷却した後、濾過した。抽出液の溶媒を減圧下に留去し、乾燥エキスを501.9 g(収率25.1%)を得た。この石油エーテル抽出エキスを101 gをシリカゲル(Kieselgel 60, 70-230メッシュ, メルク社製)550 gを使用したカラムクロマトグラフィーに付し、n-ヘキサンと酢酸エチルとの混合溶媒で酢酸エチルの混合比率を順次増加させて溶出した。n-ヘキサン:酢酸エチル(92:8)の混合溶媒で抽出したフラクションのうち、薄層クロマトグラフィー[プレート, Kieselgel 60, F<sub>254</sub>(メルク社製);展開溶媒, n-ヘキサン:酢酸エチル(9:1);検出, 紫外線(254 nm)照射]でR<sub>f</sub>値0.8に吸収を示すスポットが認められるフラクションを合併し、減圧乾燥し、乾燥エキスを35.69 gを得た。

ウムで乾燥した後、溶媒を減圧下に留去した。得られた残渣を分取高速液体クロマトグラフィー[カラム, ウォータース社製 semi prep  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>(径7.8 mm, 長さ30 cm);移動相, アセトニトリル:1.5%酢酸(4:1);流速, 2.8 ml/min;検出, 示差屈折検出器;温度, 室温]に付した。保持時間11.0分に溶出される物質を含むフラクションを合併し、減圧下に溶媒を留去し、無色油状物質480 mgを得た。この無色油状物質をヘプタンから再結晶し、無色プリズム晶を得た。この無色プリズム晶の理化学的性質は文献[A. P. Tulioch and L. Bergter, *Lipids*, 14, 996(1979), L. Crombie and A. G. Jacklin, *J. Chem. Soc.*, 1632(1957)]記載のトリコサン酸の理化学的性質に一致した。

## 実験例

## ①洗浄血小板浮遊液の調製

常法に従い、血液に対して1/10量の3.8%クエン酸ナトリウムと最終濃度が0.1  $\mu$ g/mlとなるようにプロスタグランジン1, ナトリウム(以

上記乾燥エキスを35.69 gを分取高速液体クロマトグラフィー[カラム, ウォータース社製 Prep PAK-500/C<sub>18</sub>(径5.7 cm, 長さ30 cm);移動相, アセトニトリル:テトラヒドロフラン(4:1);流速, 150 ml/min;検出, 示差屈折検出器;装置, ウォータース社製 Prep LC/System 500A]に付し、保持時間18分に溶出したフラクションを分取し、減圧下に溶媒を留去し、無色の油状物質8.23 gを得た。この無色油状物質の理化学的性質は文献[池谷幸信、田口平八郎、遠藤徹、吉岡一郎、日本生薬学会第27回年会講演要旨集, 29頁(1980年)]記載の1,3-ジトリコサノイル-2-リノレオイル-グリセロールの理化学的性質に一致した。

この1,3-ジトリコサノイル-2-リノレオイル-グリセロール2 gを3%エタノール性水酸化カリウム100 mlに溶解させ、窒素気流下で50℃に2時間加熱した。この反応液を水500 mlで希釈し、1N塩酸で酸性とし、エーテル1 Lで2回抽出した。エーテル抽出液は水洗、無水硫酸ナトリ

下PGI<sub>2</sub>-Naと略す)を加え、健康人の前腕部静脈から採血した新鮮血を150 G、10分間遠心し、多血小板血漿(platelet rich plasma, PRP)を得た。更に、PGI<sub>2</sub>-Naを0.1  $\mu$ g/mlとなるように加え、室温で900 G、10分間遠心して、血小板の沈渣を得た。これを0.1  $\mu$ g/mlのPGI<sub>2</sub>-Naを含有するタイロード(Tyrode)液を用いて再浮遊させ、室温で800 G、10分間遠心した。その沈渣をPGI<sub>2</sub>-Naを含まないタイロード液を用いて、血小板数が $5 \times 10^5$ 個/mlとなるように再浮遊させて、洗浄血小板浮遊液を得た。

## ②血小板凝集能の測定

上記のようにして得た洗浄血小板浮遊液を用い、2チャンネルアグリゴメーター(Sienco社製)にて、血小板凝集に伴う血漿の透過率変化を記録した。凝集惹起剤として、10  $\mu$ g/mlコラーゲン(Collagen)溶液(SK F緩衝液に溶解)または5  $\mu$ Mアラキドン酸溶液(50 mMトリス塩酸緩衝液pH7.4に溶解)を用いた。

洗淨血小板浮遊液225μlに上記のトリコサン酸のエタノール溶液0.5μlを加え、直ちに凝集惹起剤25μlを添加して5分間反応させた後、最大凝集率を求めた。尚、コントロールとして、本発明の薬剤を含まないエタノールを用いた。

そしてコントロールの最大凝集に対するトリコサン酸の50%抑制濃度をIC<sub>50</sub>として求めた。その結果、コラーゲンによって誘起される血小板凝集に対するIC<sub>50</sub>は3.0μMであり、アラキドン酸による血小板凝集に対するIC<sub>50</sub>は90μMであつた。

これらの結果から、トリコサン酸にすぐれた血小板凝集抑制作用があることが認められた。従つて、上述した理由により、加水分解によつてトリコサン酸を生じる一般式の化合物が血小板凝集抑制作用を有することは明らかである。

一般式の化合物はそのまま、あるいは慣用の製剤担体と共に動物および人に投与することができる。投与形態としては、特に限定がなく、必要に応じ適宜選択して使用され、錠剤、カプセル剤、

顆粒剤等の経口剤、注射剤、坐剤等の非経口剤が挙げられる。

錠剤、カプセル剤、顆粒剤等の経口剤は常法に従つて製造される。錠剤は一般式の化合物をゼラチン、でん粉、乳糖、ステアリン酸マグネシウム、滑石、アラビアゴム等の製剤学的賦形剤と混合し賦形することによりつくられ、カプセル剤は、上記化合物を不活性の製剤充填剤、もしくは希釈剤と混合し、硬質ゼラチンカプセル、軟質ゼラチンカプセル等に充填することによりつくられる。シロップ剤、エリキシル剤は、一般式の化合物をシロップ等の甘味剤、メチルパラベンおよびプロピルパラベン類等の防腐剤、着色剤、調味剤、芳香剤、補助剤と混合して製造される。

非経口剤は常法に従つて製造され、希釈剤として一般に注射用蒸留水、生理食塩水、デキストロース水溶液、プロピレングリコール等を用いることができる。さらに必要に応じて、殺菌剤、防腐剤、安定剤を加えてもよい。また、この非経口剤は安定性の点から、カプセル等に充填後冷凍し、

通常の凍結乾燥技術により水分を除去し、使用直前に凍結乾燥物から液剤を再調製することもできる。

特許出願人 株式会社 津村順天堂

代 表 者 津 村





PTO 07-4823

CC=JP DATE=19870520 KIND=A  
PN=62108844

NOVEL GLYCEROL DERIVATIVE  
[Shinki Na Guriserin Yudotai]

Yukinobu Iketani, et al.

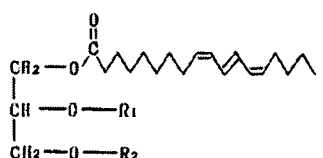
UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE  
Washington, D.C. June 2007

Translated by: FLS, Inc.

PUBLICATION COUNTRY	(19): JP
DOCUMENT NUMBER	(11): 62108844
DOCUMENT KIND	(12): A
PUBLICATION DATE	(43): 19870520
PUBLICATION DATE	(45):
APPLICATION NUMBER	(21): 60247207
APPLICATION DATE	(22): 19851106
INTERNATIONAL CLASSIFICATION	(51): C07C 69/587; //A61K 31/23
DOMESTIC CLASSIFICATION	(52):
INVENTOR	(72): IKETANI, YUKINOBU; TAGUCHI, HEIHACHIRO; NIITSU, KAZUAKI
APPLICANT	(71): TSUMURA JUNTENDO, INC.
TITLE	(54): NOVEL GLYCEROL DERIVATIVE
FOREIGN TITLE	[54A]: SHINKI NA GURISERIN YUDOTAI

## Novel Glycerol Derivative

(1) A novel glycerol derivative represented by the general formula:



(2) The compound of Claim 1 wherein R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> in the above-mentioned general formula are linoleoyl groups.

(3) The compound of Claim 1 wherein R<sub>1</sub> in the above-mentioned general formula is a linoleoyl group and R<sub>2</sub> is a palmitoyl group.

The present invention relates to a novel glycerol derivative.

In recent years, the rapid rise in thrombotic diseases, such as heart attacks and cerebral thrombosis, in Japan has become a societal problem due to changes in eating habits and aging phenomenon.

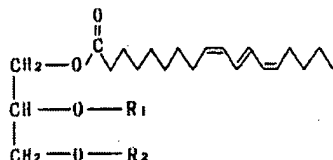
In addition, therapeutic drugs for these thrombotic diseases have been studied from all pharmacological standpoints.

As a result of performing painstaking research to develop a useful drug for treating thrombotic diseases, the inventors of the present invention

\* Numbers in the margin indicate pagination in the foreign text.

discovered a novel glycerol derivative represented by the aforesaid general formula and they completed the present invention.

That is, the present invention relates to a novel glycerol derivative represented by the general formula (referred to as "compound of the general formula" hereinafter):



(where  $R_2$  in the general formula is a linoleoyl group or palmitoyl group when  $R_1$  is a linoleoyl group, and  $R_2$  is a tricosanoyl group, linoleoyl group or palmitoyl group when  $R_1$  is a palmitoyl group.) /2

The above-mentioned compound of the general formula typically includes the compounds, as shown below, and is obtained in the method as follows.

The  $R_1$  and  $R_2$  in the above-mentioned compound of the general formula are 1-tricosanoyl-2,3-dilinoleoyl glycerol, which is a linoleoyl group, and  $R_1$  is a linoleoyl group, while  $R_2$  is a palmitoyl group.

1-Tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl glycerol is obtained in the following manner.

Trichosanthes seeds including the dried seeds of *Trichosanthes kirillowii* Maximowicz var. *japonicum* Kitamura, *Trichosanthes bracteata* Voigt or *Trichosanthes kirillowii* Maximowicz are extracted by heating to between 0°C and a temperature at or below the boiling point of the solvent and extracted, or subjected to an ultrasonic extraction between 0°C and room temperature using one or more solvents selected from water, methanol, ethanol, acetone, ethyl acetate, ether, methylene chloride,

benzene, n-hexane and petroleum ether, individually or as a mixed solvent, to obtain a liquid extract. This liquid extract is applied to column chromatography as is or by concentrating or drying it and using an adsorbent, such as silica gel, alumina and ODS-silica gel, and the eluate is fractionated to obtain a crude fraction. Water, methanol, ethanol, acetone, tetrahydrofuran, ethyl acetate, ether, chloroform, methylene chloride, benzene, n-hexane, petroleum ether can be used individually for the elution solvent, or as a mixed solvent of more than one of these.

The crude fraction obtained in this way is applied to a preparative thin-layer chromatography using a fluorescent agent-containing silica gel (made by Merck, Kieselgel 60 PF<sub>254</sub>, etc.) or alumina (aluminum oxide PF<sub>254</sub>, etc., made by Merck) as the carrier for the thin-layer plate and one or more solvents selected from among water, acetonitrile, methanol, acetone, tetrahydrofuran, ethyl acetate, ether, chloroform, methylene chloride, benzene, n-hexane and petroleum ether, individually or as a mixed solvent, as the developing solvent, and after the developing, the part containing 1-tricosanoyl-2,3-dilinoleoyl glycerol and 1-tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl glycerol identified by UV (254 nm) irradiation, extracted in an individual or mixed solvent of a low-boiling-point solvent, such as ether, methylene chloride and petroleum ether, whereby, a mixed oil of 1-tricosanoyl-2,3-dilinoleoyl glycerol and 1-tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl glycerol is obtained.

This mixed oil is applied to a preparative liquid chromatography using an ODS-silica gel as the carrier and one or more solvents selected from among water, acetonitrile, tetrahydrofuran, methanol, acetone, ethyl

acetate, chloroform or n-hexane, individually or as a mixed solvent, as the mobile phase, separated into a fraction comprising 1-tricosanoyl-2,3-dilinoleoyl glycerol and a fraction comprising 1-tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl glycerol, and further, the fraction comprising 1-tricosanoyl-2,3-dilinoleoyl glycerol is combined and the solvent is distilled off, whereby an oily substance of 1-tricosanoyl-2,3-dilinoleoyl glycerol is obtained.

Moreover, the fraction comprising 1-tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl glycerol is combined and the solvent is distilled off whereby a dried oil of crude 1-tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl glycerol is obtained. This dry oil is purified again with the same preparative liquid chromatography, as mentioned above, the fraction comprising 1-tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl glycerol is combined and the solvent is distilled off, whereby a colorless, oily 1-tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl glycerol is obtained. /3

Specific examples of the manufacture of the compound of the general formula are shown next.

#### Specific Example 1

480 g of *Trichosanthes* seeds (*Trichosanthes kirillowii* Maximowicz var. *japonicum* Kitamura seeds) were crushed, 2.5 L of ether were added, this was heat-refluxed and extracted for 6 hours, and the liquid extract was cooled and subsequently filtered. The residue extract was extracted another two times in the same manner, the extracted filtrate was combined, and the solvent was distilled off under reduced pressure to obtain 118.46

g dry extract. This 118.46 g of ether-extracted, dried extract was applied to column chromatography with 700 g silica gel (Kieselgel 60.70-230 mesh, made by Merck), the percentage of the ethyl acetate solvent in the mixed n-hexane and ethyl acetate solvent was increased sequentially and eluted. The fraction eluted with 0.6 L of n-hexane and ethyl acetate (94:6) was combined and the solvent was distilled off under reduced pressure to obtain 32.51 g of a crude fraction.

25.44 g of this crude fraction were applied to a preparative thin-layer chromatography (plate: Kieselgel 60 PF<sub>254</sub>, made by Merck; developing solvent: n-hexane:ethyl acetate (9:1); the part exhibiting absorption under UV (254 nm) irradiation peeled off and was extracted by adding ether. 17.86 g of a residue obtained by distilling off the solvent from the liquid extract was applied to a preparative high-speed liquid chromatography (column made by Waters; Semi-Prep  $\mu$  Bondapak C<sub>18</sub> (diameter: 7.8 mm, length: 30 cm); mobile phase: acetonitrile:tetrahydrofuran:water (50:50:7); flow rate: 3.0 mL/min.; extraction: differential thermal analysis detector; temperature: room temperature). The fraction comprising the substance eluted at a retention time of 10.1 minutes is combined, and 6.33 g of the residue obtained by distilling off the solvent under reduced pressure was applied to a preparative high-speed liquid chromatography ( $\mu$  Bondapak C<sub>18</sub> column made by Waters (diameter: 7.8 mm, length: 30 cm); mobile phase: acetonitrile:tetrahydrofuran (9:1); flow rate: 3.0 mL/min.; temperature: room temperature). The fraction comprising a substance eluted at a retention time of 32 minutes was combined, and the solvent was removed under reduced pressure to obtain 0.57 g of a colorless, oily substance. From the spectral

data given later, this colorless, oily substance was determined to be 1-tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl glycerol.

Attributes: colorless, oily substance

Field desorption mass spectrum (FD-MS):  $m/z$  852 ( $M^+$ )

IR absorption spectrum  $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3} \text{ cm}^{-1}$ : 1735, 1461, 1169, 993

UV absorption spectrum  $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$   $\text{nm}(\log \epsilon)$ : 266 (4.38), 274 (4.49), 285 (4.37)

Proton nuclear magnetic resonance spectrum ( $\delta_{\text{ppm}}$  in  $\text{CDCl}_3$ ):

0.90 (9 H, s).	1.32 (56 H, s).
1.85 - 2.47 (14 H, m).	
2.78 (2 H, s).	
4.23 (4 H, m).	
5.08 - 5.62 (7 H, m).	
5.92 - 6.58 (4 H, m).	

$^{13}\text{C}$ -nuclear magnetic resonance spectrum: ( $\delta_{\text{ppm}}$  in  $\text{CDCl}_3$ ):

13.95 (q).	14.07 (q).
14.11 (q).	22.35 (t).
22.60 (t).	22.70 (t).
24.52 (t).	24.89 (t).
25.66 (t).	27.23 (t).
27.60 (t).	27.85 (t).
29.08 (t).	29.15 (t).
29.37 (t).	29.51 (t).
29.56 (t).	29.66 (t).
30.47 (t).	31.55 (t).
31.89 (t).	31.94 (t).
34.05 (t).	34.22 (t).
62.13 (t).	68.95 (d).
127.84 (d).	127.92 (d).
128.12 (d).	128.78 (d).
128.89 (d).	129.73 (d).
130.00 (d).	130.23 (d).
132.44 (d).	132.70 (d).
172.80 (s).	173.23 (s) $\times 2$

/4

The signals of four of the six olefin protons of tricosanoic acid of this substance were observed at  $\delta$  5.92 - 6.58 (4 H, m) in the proton nuclear



magnetic resonance spectrum ( $\text{CDCl}_3$ ), the two remaining olefin proton signals, one olefin proton signal of linoleic acid, and the 2-site methine proton signal of glycerol whose low magnetic field was shifted by the ester bonds were observed at  $\delta 5.08 - 5.62$  (7 H, m), and signals based on two 1,4-pentadiene-based methylenes were observed at  $\delta 2.78$  (2 H, s), while the 1-site and 3-site methylene proton signals of glycerol whose low magnetic field shifted by ester bonds were observed at  $\delta 4.23$  (4 H, m). Moreover, in the  $^{13}\text{C}$ -nuclear magnetic resonance spectrum ( $\text{CDCl}_3$ ), an olefin carbon signal ( $\delta 132.70$  (d),  $132.44$  (d),  $128.89$  (d),  $128.78$  (d),  $127.84$  (d)) thought to be due to tricosanoic acid was observed, an olefin carbon signal ( $\delta 130.23$  (d),  $130.00$  (d),  $129.12$  (d),  $127.92$  (d)) thought to be due to linoleic acid was observed, and further, methylene and methine carbon black signals of glycerol were observed at  $\delta 62.13$  (t) and  $\delta 68.95$  (d), respectively. Furthermore, if porcine pancreatic lipase with selectively-bonded triglycerol 1-site and 3-site ester bonds (cited literature: H.B.S. Conacher, F.D. Gunstone, G.M. Hornby and F.B. Padley. Lipid 5 (1970):434) and this substance were reacted, tricosanoic acid, palmitic acid and 2-linoleoyl glycerol were obtained. The above findings were summed and it was determined that this substance was 1-tricosanoyl-2-linoleoyl-3-palmitoyl glycerol.

#### Specific Example 2

480 g of *Trichosanthes* seeds (*Trichosanthes kirillowii* Maximowicz var. *japonicum* Kitamura seeds) were crushed, 2.5 L of ether were added, this was heat-refluxed and extracted for 6 hours, and the liquid extract was cooled and subsequently filtered. The residue extract was extracted another two times in the same manner, the extracted filtrate was combined,

and the solvent was distilled off under reduced pressure to obtain 118.46 g dry extract. This 118.46 g of ether-extracted, dried extract was applied to column chromatography with 700 g silica gel (Kieselgel 60.70-230 mesh, made by Merck), the percentage of the ethyl acetate solvent in the mixed n-hexane and ethyl acetate solvent was increased sequentially and eluted. The fraction thereof eluted with 0.6 L of n-hexane and ethyl acetate (94:6) was combined and the solvent was distilled off under reduced pressure to obtain 32.51 g of a crude fraction.

25.44 g of this crude fraction were applied to a preparative thin-layer chromatography (plate: Kieselgel 60 PF<sub>254</sub>, made by Merck; developing solvent: n-hexane:ethyl acetate (9:1); the part exhibiting absorption under UV (254 nm) irradiation peeled off and was extracted by adding ether. 17.86 g of a residue obtained by distilling off the solvent from the liquid extract was applied to a preparative high-speed liquid chromatography (column made by Waters; Semi-Prep  $\mu$  Bondapak C<sub>18</sub> (diameter: 7.8 mm, length: 30 cm); mobile phase: acetonitrile:tetrahydrofuran:water (50:50:7); flow rate: 3.0 mL/min.; extraction: differential thermal analysis detector; temperature: room temperature). The fraction eluted at a retention time of 9.1 minutes was combined, and 2.31 g of a colorless, oily substance was obtained. From the spectral data given later, this colorless, oily substance was determined to be 1-tricosanoyl-2,3-dilinoleoyl /5 glycerol.

Attributes: colorless, oily substance

Field desorption mass spectrum (FD-MS):  $m/z$  876 (M<sup>+</sup>)

Specific rotation:  $[\alpha]_D^{25}$  0° ( $c = 1.82$ , CHCl<sub>3</sub>)

Optical rotatory dispersion: ORD ( $c = 0.347$ , Dioxane) |  $[\alpha]_D^{25}(\text{ne}): 0(240 - 700)$

IR absorption spectrum  $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3} \text{ cm}^{-1}$ : 1732, 1452, 1435, 990, 960

UV absorption spectrum  $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} \text{ m}\mu(\log \epsilon)$ :

255 (4.25), 265 (4.47),  
274 (4.59), 285 (4.48)

Proton nuclear resonance spectrum ( $\delta_{\text{ppm}}$  in  $\text{CDCl}_3$ )

0.88 (9 H, s), 1.32 (40 H, brs),  
1.83 - 2.43 (18 H, s),  
2.75 (4 H, t-like,  $J = 5.5 \text{ Hz}$ ),  
4.22 (4 H, s),  
5.07 - 5.65 (11 H, s),  
5.85 - 6.00 (4 H, s)

$^{13}\text{C}$ -nuclear magnetic resonance spectrum: ( $\delta_{\text{ppm}}$  in  $\text{CDCl}_3$ )

13.91 (q)  $\times 2$ , 14.06 (q),  
22.34 (t), 22.59 (t),  
24.88 (t), 25.69 (t),  
27.24 (t), 27.61 (t),  
27.86 (t), 29.09 (t),  
29.14 (t), 29.38 (t),  
29.66 (t), 31.56 (t),  
31.90 (t), 34.06 (t),  
34.22 (t), 62.14 (t)  $\times 2$ ,  
69.00 (d), 127.87 (d),  
127.96 (d)  $\times 2$ , 128.01 (d),  
128.14 (d)  $\times 2$ , 128.82 (d),  
128.93 (d), 130.01 (d)  $\times 2$ ,  
130.24 (d)  $\times 2$ , 132.41 (d),  
132.66 (d),  
172.78 (s), 173.18 (s)  $\times 2$

The signal of four of the six olefin protons of tricosanoic acid of this substance were observed in the proton nuclear magnetic resonance spectrum ( $\text{CDCl}_3$ ) at  $\delta 5.85 - 6.00$  (4 H, s), the two remaining olefin proton signals, eight olefin proton signals of two linoleic acid molecules, and the 2-site methine proton signal of glycerol were observed at  $\delta 5.07 - 5.65$  (11 H, s), and moreover, signals based on the 1-site and 3-site methylene proton signals

of glycerol were observed at  $\delta 4.22$  (4 H, s). Furthermore, signals based on the 1,4-pentadiene-based two methylenes of two linoleic acid molecules were observed at  $\delta 2.75$  (4 H, t-like, J = 5.5 Hz).

In addition, in the  $^{13}\text{C}$ -nuclear magnetic resonance spectrum ( $\text{CDCl}_3$ ), a signal based on the olefin carbon of one molecule of tricosanoic acid was observed ( $\delta 132.06$  (d),  $132.41$  (d),  $128.93$  (d),  $128.82$  (d),  $128.01$  (d),  $127.87$  (d)), signals based on the olefin carbons of two molecules of linoleic acid were observed ( $\delta 130.24$  (d)  $\times 2$ ,  $130.01$  (d)  $\times 2$ ,  $128.14$  (d)  $\times 2$ ,  $127.96$  (d)  $\times 2$ ), and signals based on the methylene and methane carbons of the glycerol were observed ( $\delta 62.14$  (t)  $\times 2$ ,  $69.00$  (t)). Furthermore, if this substance was reacted with porcine pancreatic lipase in the same way as mentioned above, a 1:1 ratio of tricosanoic acid and linoleic acid was observed. Furthermore, 2-linoleoyl glycerol was obtained. The above findings were summed and it was determined that this substance was 1-tricosanoyl-2,3-dilinoleoyl glycerol.

The compound of the general formula of the present invention has a platelet aggregation inhibitory action and is useful as a therapeutic drug for cerebral arteriosclerosis, heart attacks, myocardial infarctions, etc.

The fatty acid ester bonds of the compound of the general formula are hydrolyzed readily by an acid, such as gastric acid, and an enzyme, such as pancreatic lipase, and metabolized *in vivo* with glycerol and a fatty acid, e.g., tricosanoic acid, or linoleic acid or palmitic acid (H.B.S. Conacher, F.D. Gunstone, G.M. Hornby and F.B. Padley. Lipids 5 (1970):434). Consequently, as long as there is plate aggregation inhibitory action on tricosanoic acid, it is clear that the compound of the general

formula exhibits the same pharmacological action. The plate aggregation inhibitory action of tricosanoic acid will now be described by citing practical examples.

#### Manufacture of tricosanoic acid

/6

2 kg of *Trichosanthes* seeds (*Trichosanthes kirillowii* Maximowicz var. *japonicum* Kitamura seeds) were crushed, 10 L of petroleum ether (boiling point: 45°C or less) were added, heat-refluxed and extracted for 2 hours, the liquid extract was cooled and subsequently filtered. The solvent of the extract filtrate was distilled off under reduced pressure to obtain 501.9 g (yield: 25.1%) of dried extract. 101 g of this petroleum ether extract was applied to column chromatography using 550 g silica gel (Kieselgel 60.70-230 mesh, made by Merck), the mixed percentage of the ethyl acetate was increased sequentially with a mixed n-hexane and ethyl acetate solvent and eluted. Of the fractions extracted with an n-hexane:ethyl acetate (92:8) mixed solvent, the fraction where spots showing absorption at an  $R_f$  value of 0.8 by thin-layer chromatography (plate, Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (made by Merck); developing solvent: n-hexane: ethyl acetate (9:1); detection: UV (254 nm) irradiation was combined and vacuum dried to obtain 35.69 g of dried extract.

35.69 g of the above-mentioned dried extract were applied to a preparative high-speed liquid chromatography (column: Prep PAK-500/C<sub>18</sub> (diameter: 5.7 cm, length: 30 cm) made by Waters; mobile phase: acetonitrile:tetrahydrofuran (4:1), flow rate: 150 mL/min.; detection device: differential thermal analysis detector (Prep LC/System 500A, made by Waters), the fraction eluted at a retention time of 18 minutes was

fractionated, and the solvent was distilled off under reduced pressure to obtain 8.23 g of a colorless, oily substance. The physicochemical properties of this colorless, oily substance match the physicochemical properties of 1,3-ditricosanoyl-2-linoleoyl glycerol described in cited literature (Yoshinobu Iketani, Heihachiro Taguchi, [illegible] Enzo, Ichiro Yoshioka. Proc. of 27<sup>th</sup> Annual Meeting of The Japanese Society of Pharmacognosy, pg. 29 (1980)).

2 g of this 1,3-ditricosanoyl-2-linoleoyl glycerol were dissolved in 100 mL of 3% ethanolic potassium hydroxide, and heated to 50°C for 2 hours under a nitrogen flow. This reaction liquor was diluted with 500 mL of water, made acidic 1N hydrochloric acid, and extracted twice with 1L of ether. The ether extract was washed with water, dried with anhydrous sodium sulfate, and the solvent was subsequently distilled off under reduced pressure. The resulting residue was applied to a preparative liquid chromatography (column: Semi-Prep  $\mu$  Bondapak C<sub>18</sub> (diameter: 7.8 mm, length: 30 cm) made by Waters; mobile phase: acetonitrile: 1.5% acetic acid (4:1), flowrate: 2.8 mL/min.; detection: differential thermal analysis detector; temperature: room temperature). The fraction comprising a substance eluted at a retention time of 11.0 minutes was combined and the solvent was distilled off under reduced pressure to obtain 480 mg of a colorless, oily substance. This colorless, oily substance was recrystallized from heptane to obtain a colorless prism crystal. The physicochemical properties of this colorless prism crystal matched the physicochemical properties of tricosanoic acid described in cited literature (A.P. Tullock and L. Bergter. Lipids 14 (1979):996, L. Crombie and A.G.

Jacklin. J. Chem. Soc. (1957):1632).

### Practical Examples

#### (1) Manufacture of washed platelet suspension

Prostaglandin I<sub>2</sub> sodium (abbreviated "PGI<sub>2</sub>Na" hereinafter) was so added in accordance with the usual method that the amount of 3.8% sodium citrate, which was one-tenth that of blood, was 0.1 µg/mL, fresh blood collected from a vein in the forearm of a healthy patient was centrifuged for 10 minutes at 150G, and platelet-rich plasma (PRP) was obtained. Furthermore, PGI<sub>2</sub>Na was added to a concentration of 0.1 µg/mL, and centrifuged for 10 minutes at 900G and room temperature to obtain a precipitate of platelets. This was resuspended using Tyrode liquid containing 0.1 µg/mL PGI<sub>2</sub>Na, and centrifuged for 10 minutes at 800 G and room temperature. This precipitate was so resuspended that the platelet count was  $5 \times 10^5$  cells/mL using Tyrode liquid without PGI<sub>2</sub>Na.

#### (2) Measurement of platelet aggregation ability

The variation in the blood plasma transmittance in association with platelet aggregation was recorded using a 2-channel aggregometer (made by Sienco, Inc.). A 10 µg/mL collagen solution (dissolved in SKF buffer) or 5 µM arachidonic acid solution (dissolved in 50 mM tris-acetate buffer (pH: 7.4)) was used as the aggregation-inducing agent.

0.5 µL of an ethanol solution of the above-mentioned tricosanoic /7 acid was added to 225 µL of a washed platelet suspension, 25 µL of an aggregation-inducing agent was immediately added and reacted for 5 minutes, after which the maximum aggregation rate was found. Moreover, ethanol free of the solvent of the present invention was used as the control.

The 50% inhibitory concentration  $IC_{50}$  of the tricosanoic acid versus the maximum aggregation of the control was found. As a result, the  $IC_{50}$  versus the platelet aggregation induced by collagen was 30  $\mu M$  and the  $IC_{50}$  versus platelet aggregation by arachidonic acid was 90  $\mu M$ .

It was obvious from these results that there was outstanding platelet aggregation inhibitory action with tricosanoic acid. As a consequence, according to the reasons above, it is clear that the compound of the general formula which produces tricosanoic acid has platelet aggregation inhibitory action.

The compound of the general formula can be administered to animals and people as is or along with a customary preparation carrier. The administration form is not limited in particular, and it is properly selected and used, as needed. Oral formulations, such as tablets, capsules and granules; and parental formulations, such as injections and suppositories, are cited.

The oral formulations, such as tablets, capsules and granules, are manufactured in accordance with the usual method. The tablets are made by mixing and forming the compound of the general formula with a pharmaceutical excipient, such as gelatin, starch, lactose, magnesium stearate, talc or gum arabic. The capsules are made by mixing the above-mentioned compound with a filler or a diluent having an inactive formulation and packing this into hard gelatin capsules, soft gelatin capsules, etc. Syrups and elixirs are manufactured by mixing the compound of the general formula with sweeteners, such as sucrose, preservatives, such as methylparaben and propylparaben, as well as colorants, seasonings, perfumes and adjuvants.



The parental formulations are manufactured in accordance with the usual method, and distilled water for injection, physiological saline, aqueous dextrose solution, propylene glycol, and the like can be used in general as the diluent. And as further needed, disinfectants, preservatives, and stabilizers may be added. In addition, these parental formulations are packed into capsules and the like, subsequently frozen, the moisture is removed by the usual freeze-drying technology, and liquid medicine can be reconstituted from the freeze-dried product just prior to use.